*Труды Зоологического института РАН*
*Том 323, № 4, 2019, с. 442–450*
*10.31610/trudyzin/2019.323.4.442*



*УДК 597.2,597.442,597.552.511,576.3*

# Особенности ультраструктурной организации стероидсекреторных клеток в гонадах у молоди круглоротых и рыб

**М.В. Мосягина[1]* и О.В. Зеленников[2]**

[1]*Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Черниговская ул. 5, 196084, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: mmosyagina@mail.ru*

[2]*Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 7/9, 199034 Санкт-Петербург, Россия; e-mail: oleg_zelennikov@mail.ru*

**РЕЗЮМЕ**

Проведён сравнительный ультраструктурный анализ стероидсекреторных клеток (СК) в гонадах у молоди миноги *Lampetra fluviatilis* (Linnaeus, 1758), сибирского осетра ленской популяции *Acipenser baerii* Brandt, 1869, стерляди *A. ruthenus* Linnaeus, 1758, радужной форели *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) и горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum, 1792) на сходных этапах гаметогенеза. Определяли локализацию и размеры СК, измеряли диаметр митохондрий, канальцев агранулярной эндоплазматической сети и липидных включений, а также определяли относительные объемные плотности этих структур. Результаты исследования показали, что изменение активности СК и их локализации в гонадах связано с процессами дифференцировки пола и ростом ооцитов. Так, у самок всех изученных видов наблюдалось изменение локализации СК в направлении строма→оболочки превителлогенных ооцитов с одновременным увеличением их секреторной активности (увеличение размеров СК, размеров и объемной плотности митохондрий и канальцев агранулярной эндоплазматической сети). У самцов в ходе гаметогенеза также менялась локализация СК в направлении эпителий→строма семенника с увеличением их секреторной активности. При этом самые крупные и активные СК были обнаружены в строме семенников горбуши в период естественной инверсии пола. Однако были выявлены различия в ультраструктурной организации СК, которые носят, по-видимому, видоспецифичный характер. Наибольший средний диаметр канальцев агранулярного эндоплазматического ретикулума был отмечен в СК осетровых, для них же характерно и большое количество липидных включений на ранних этапах гаметогенеза. Это необходимо учитывать при сравнительном анализе количественных данных у рыб разных систематических групп.

**Ключевые слова:** горбуша, минога, радужная форель, ранний гаметогенез, сибирский осетр, стерлядь, стероидсекреторные клетки

---

# Special features of ultrastructural organization steroid-secretory cells in the gonads of juveniles of cyclostomes and fishes

**M.V. Mosyagina[1]* and O.V. Zelennikov[2]**

[1]*Federal State budget educational institution of higher education «Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine», Chernigovskaya St. 5, 196084 Saint Petersburg, Russia; e-mail: mmosyagina@mail.ru*

[2]*Saint-Petersburg State University, Universitetskaya Emb. 7/9, 199034 Saint Petersburg, Russia; e-mail: oleg_zelennikov@mail.ru*

**ABSTRACT**

The comparative ultrastructural analysis of steroid-secretory cells (SC) in gonads of youngs lamprey *Lampetra fluviatilis* (Linnaeus 1758), Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt 1869, sterlet *A. ruthenus* Linnaeus, 1758,

**Автор-корреспондент / Corresponding author*

rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792) and pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum 1792) at similar stages of gametogenesis was carried out. The SC localization and size, the diameters of mitochondria, tubules of agranular reticulum, lipid inclusions and also the relative volume density of these structures were determined and calculated. It is concluded that localization of SC in gonads and their activity changes are closely related to the processes of sex differentiation and the growth of oocytes. Thus, in females of all studied species there was a change in SC localization in the direction of stroma→theca→granulosa of previtellogenic oocytes with a simultaneous increase of their secretory activity (increase in SC size, size and volume density of mitochondria and of agranular endoplasmic reticulum tubules). In males, during gametogenesis, the SC localization also changed in the direction of epithelium→stroma testicular with an increase of their secretory activity. In this case, the largest and most active SC were found in the stroma of pink salmon testicular during the natural sex inversion. At the same time, however, were revealed differences in SC ultrastructural organization, appeared to be of species-specific nature. The highest average diameter of the agranular endoplasmic reticulum tubules was observed in sturgeon SC and they are characterized by a large number of lipid inclusions in early stages of gametogenesis. This should be taken into account when comparatively analysing of quantitative data in fish of different systematic groups.

**Key words:** pink salmon, lamprey, rainbow trout, early gametogenesis, Siberian sturgeon, sterlet, steroid-secretory cells

## ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени в литературе накоплено много сведений о состоянии стероидсекреторных клеток в гонадах у молоди (Арбузова [Arbuzova] 1996; Федоров и др. [Fedorov et al.] 1990; Cavaco et al., 1999; Devlin and Nagahama 2002; Kobayashi et al., 2011; Мосягина и др. [Mosyagina et al.] 2003; Мосягина [Mosyagina] 2006; Nakamura et al. 1998) и взрослых особей круглоротых и рыб (Alam et al. 2005; Do Rego and Vaudry 2016; Guraya 1976a, 1976b; Vizziano-Cantonnet 2018; и др.). Очевидно, что ультраструктурная организация стероидсекреторных клеток связана с их функциональной активностью. Однако данные о возможном сходстве или различиях в размерах и строении этих клеток у круглоротых и рыб разных систематических групп в литературе практически отсутствуют. Целью нашей работы было проанализировать видовые особенности стероидсекреторных клеток у отдельных представителей круглоротых и рыб.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Стероидсекреторные клетки исследовали у молоди речной миноги, сибирского осетра, стерляди, радужной форели и горбуши. Личинок миноги отлавливали в реке Черная Ленинградской области. Молодь осетра и стерляди в возрасте 1 мес. доставили из Конаковского рыбного хозяйства (Тверская область), личинок радужной форели в возрасте 14 сут. – из селекционно-генетического центра рыбоводства «Ропша» (Ленинградская область), а икру горбуши на стадии пигментации глазных бокалов у зародышей – с Березняковского рыбоводного завода (Сахалинская область). Всех рыб выращивали в лаборатории ихтиологии СПбГУ в системе с оборотным водоснабжением при характерных для нее гидрохимических параметрах (Zelennikov 1997; Мосягина и Зеленников [Mosyagina and Zelennikov] 2016) и температуре: осетровых рыб – 19–20 °С, форель – 13–15 °С, горбушу – 9–11 °С до начала экзогенного питания и 17–18 °С в дальнейшем. Возраст круглоротых и рыб всех видов в момент фиксаций указан в Табл. 1.

Фиксацию гонад проводили в 6%-ном глутаральдегиде на каккодилатном буферном растворе (pH 7.2–7.4) в течение 2 ч при 4 °С. Затем после промывки материал дофиксировали в 1%-ном растворе $OsO_4$ на том же буфере и после обезвоживания в спиртах и ацетоне заливали в Эпон-812. Полутонкие срезы, полученные на ультратоме Ultracut E (Reichert-Jung, Австрия), окрашивали метиленовым синим. Ультратонкие срезы контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца (Миронов и др. [Mironov et al.] 1994). Готовые препараты просматривали на электронном микроскопе BS-500 (Tesla, Чехия).

**Таблица 1.** Характеристика стероидсекреторных клеток (СК) в яичниках у молоди круглоротых и рыб.
**Table 1.** Feature steroidsecretory cells (SCs) in ovaries from juvenile cyclostomes and fishes.

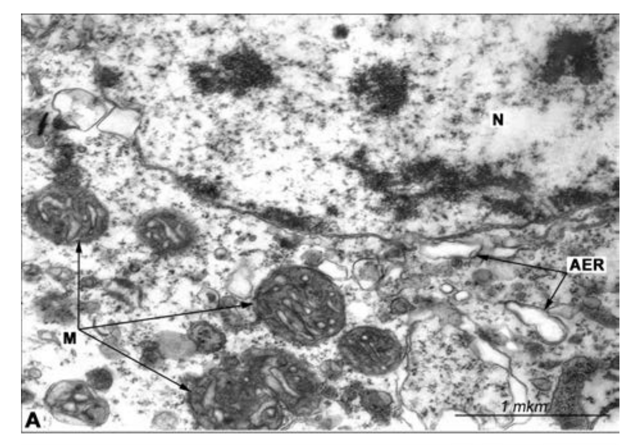
| Вид<br>Species | Возраст<br>Age | Клетки, мкм[a)]<br>Cells, mkm[a)] | Расположение СК<br>Localization SCs | Средний диаметр, мкм (M ± m)<br>Относительная объемная плотность, %<br>Average diameter, mkm (M ± m)<br>Volume density, % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | СК<br>SCs | Митохондрии<br>Mitochondria | Канальцы АЭР[b)]<br>AER tubules[b)] | Липиды<br>Lipid droplets |
| САМКИ/FEMALES | | | | | | | |
| Радужная форель<br>Rainbow trout | 30 сут.,<br>days | Гонии<br>gonia | Эпителий<br>Epithelium | 8.8 ± 0.5 x<br>3.2 ± 0.4 | 0.26 ± 0.02<br>10.0 ± 1.2 | 0.03 ± 0.004<br>5.1 ± 0.8 | – |
| | | | Строма<br>Stroma | 6.3 ± 0.5 | 0.65 ± 0.03<br>14.6 ± 0.9 | 0.21 ± 0.019<br>2.6 ± 1.0 | 0.6 ± 0.27<br>8.7 ± 1.1 |
| | 45 сут.,<br>days | РПМ[c)]<br>EPM[c)] | Эпителий<br>Epithelium | 10.8 ± 0.6 x<br>4.7 ± 0.8 | 0.42 ± 0.04<br>18.3 ± 0.7 | 0.10 ± 0.011<br>5.0 ± 0.9 | – |
| | 75 сут.,<br>days | ПВ[d)] 40–50<br>PV[d)] 40–50 | Эпителий<br>Epithelium | 7.3 ± 0.2 x<br>4.5 ± 0.2 | 0.50 ± 0.01<br>9.1 ± 0.7 | 0.08 ± 0.005<br>8.9 ± 1.3 | – |
| | | | Строма<br>Stroma | 9.3 ± 0.4 | 0.77 ± 0.12<br>37.1 ± 1.8 | 0.16 ± 0.020<br>14.5 ± 0.7 | |
| | 116 сут.,<br>days | ПВ, PV<br>100–120 | Строма<br>Stroma | 5.2 ± 0.6 | 0.43 ± 0.07<br>17.5 ± 1.7 | 0.10 ± 0.023<br>10.6 ± 1.4 | – |
| | | | Гранулеза<br>Granulosa | 10.7 ± 0.5 x<br>3.1 ± 0.4 | 0.64 ± 0.02<br>12.9 ± 1.9 | 0.15 ± 0.017<br>5.6 ± 0.7 | – |
| Горбуша<br>Pink salmon | 1 сут.,<br>day | РПМ<br>EPM | Строма<br>Stroma | 4.3 ± 0.4 | 0.40 ± 0.01<br>10.1 ± 1.2 | 0.08 ± 0.007<br>11.6 ± 0.6 | – |
| | 30 сут.,<br>days | ПВ, PV<br>30–40 | Строма<br>Stroma | 7.1 ± 1.4 | 0.76 ± 0.10<br>12.5 ± 0.8 | 0.17 ± 0.016<br>14.8 ± 1.3 | – |
| | | | Гранулеза<br>Granulosa | 8.7 ± 0.6 x<br>2.6 ± 0.2 | 0.35 ± 0.03<br>17.4 ± 0.7 | 0.12 ± 0.013<br>15.1 ± 1.6 | – |
| | 38 сут.,<br>days | ПВ, PV<br>50–75 | Строма<br>Stroma | 4.4 ± 0.1 | 0.37 ± 0.05<br>6.5 ± 0.9 | 0.23 ± 0.03<br>5.8 ± 1.0 | – |
| | | | Гранулеза<br>Granulosa | 14.7 ± 0.5 x<br>3.2 ± 0.4 | 0.80 ± 0.13<br>21.2 ± 2.3 | 0.10 ± 0.006<br>3.9 ± 0.6 | – |
| | | | Тека<br>Theca | 9.8 ± 0.5 x<br>3.3 ± 0.2 | 0.43 ± 0.05<br>13.6 ± 0.6 | 0.06 ± 0.005<br>3.0 ± 0.4 | – |
| | 90 сут.,<br>days | ПВ, PV<br>115–130 | Тека<br>Theca | 11.9 ± 0.8 x<br>4.2 ± 0.5 | 0.72 ± 0.13<br>16.1 ± 1.3 | 0.17 ± 0.015<br>17.7 ± 0.9 | – |
| Речная минога<br>Lamprey | 1 год,<br>year | Гонии<br>gonia | Строма<br>Stroma | 6.1 ± 0.8 | 0.33 ± 0.02<br>9.4 ± 0.6 | 0.17 ± 0.033<br>12.8 ± 0.9 | – |
| | 2 года,<br>years | ПВ, PV<br>60–80 | Гранулеза<br>Granulosa | 8.7 ± 0.9 x<br>1.4 ± 0.2 | 0.41 ± 0.03<br>17.7 ± 0.9 | 0.14 ± 0.03<br>15.1 ± 1.9 | – |
| | | | Тека<br>Theca | 5.8 ± 0.6 x<br>1.7 ± 0.1 | 0.40 ± 0.04<br>12.2 ± 1.6 | 0.09 ± 0.010<br>15.9 ± 1.1 | – |
| | 3 года,<br>years | ПВ, PV<br>120–130 | Тека<br>Theca | 5.2 ± 0.9 x<br>1.7 ± 0.4 | 0.48 ± 0.05<br>14.3 ± 0.6 | 0.10 ± 0.022<br>16.4 ± 1.2 | – |
| Сибирский осетр<br>Sturgeon | 8.5 мес.,<br>months | Гонии<br>gonia | Эпителий<br>Epithelium | 10.9 ± 0.5 x<br>4.5 ± 0.5 | 0.47 ± 0.04<br>9.5 ± 0.9 | 0.13 ± 0.013<br>7.4 ± 1.1 | – |
| | | | Строма<br>Stroma | 7.1 ± 0.5 | 0.32 ± 0.05<br>6.7 ± 0.4 | 0.14 ± 0.018<br>6.0 ± 0.8 | 0.91 ± 0.07<br>21.7 ± 1.2 |
| | | РПМ<br>EPM | Строма<br>Stroma | 13.0 ± 1.0 | 0.55 ± 0.03<br>11.7 ± 0.8 | 0.23 ± 0.019<br>8.9 ± 0.5 | 1.04 ± 0.09<br>19.6 ± 1.1 |

**Таблица 1.** *Продолжение.*
**Table 1.** *Continued.*

| Вид Species | Возраст Age | Клетки, мкм[a] Cells, mkm[a] | Расположение СК Localization SCs | Средний диаметр, мкм (M ± m) Относительная объемная плотность, % Average diameter, mkm (M ± m) Volume density, % | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | СК SCs | Митохондрии Mitochondria | Канальцы АЭР[b] AER tubules[b] | Липиды Lipid droplets |
| Стерлядь Sterlet | 9.5 мес., months | ПВ, PV 60–80 | Строма Stroma | 7.2 ± 0.8 | 0.41 ± 0.58<br>12.8 ± 1.0 | 0.33 ± 0.057<br>15.5 ± 0.6 | 0.61 ± 0.14 |
| | | | Тека Theca | 18.2 ± 0.6 x<br>4.7 ± 0.3 | 0.43 ± 0.07<br>15.0 ± 0.9 | 0.30 ± 0.025<br>17.5 ± 0.7 | – |
| САМЦЫ/MALES | | | | | | | |
| Радужная форель Rainbow trout | 45 сут., days | Гонии gonia | Эпителий Epithelium | 12.1 ± 1.6 x<br>4.8 ± 0.6 | 0.40 ± 0.02<br>15.4 ± 1.0 | 0.08 ± 0.003<br>5.8 ± 0.9 | – |
| | | | Строма Stroma | 6.7 ± 0.8 | 0.50 ± 0.03<br>20.1 ± 1.4 | 0.11 ± 0.016<br>9.2 ± 1.5 | – |
| | 75 сут., days | | Эпителий Epithelium | 9.5 ± 0.9 x<br>4.6 ± 0.6 | 0.46 ± 0.05<br>14.7±0.6 | 0.15 ± 0.005<br>9.2 ± 1.3 | – |
| | | | Строма Stroma | 5.4 ± 0.4 | 0.63 ± 0.08<br>11.4 ± 1.3 | 0.14 ± 0.002<br>7.9 ± 1.3 | – |
| | 116 сут., days | | Строма Stroma | 5.7 ± 0.7 | 0.65 ± 0.08<br>24.0 ± 0.5 | 0.23 ± 0.003<br>39.2 ± 1.7 | – |
| Горбуша Pink salmon | 30 сут., days | ПВ, PV 30–40 | Строма Stroma | 9.7 ± 1.6 | 0.69 ± 0.06<br>12.9 ± 1.8 | 0.28 ± 0.033<br>20.9 ± 1.2 | – |
| | 38 сут., days | Гонии gonia | Эпителий Epithelium | 5.9 ± 0.8 | 0.63 ± 0.08<br>15.7 ± 1.3 | 0.10 ± 0.012<br>9.6 ± 0.8 | – |
| | 90 сут., days | | Строма Stroma | 7.5 ± 0.9 | 0.55 ± 0.03<br>13.1 ± 0.8 | 0.23 ± 0.021<br>21.7 ± 1.2 | – |
| Речная минога Lamprey | 2 года years | Гонии gonia | Строма Stroma | 6.2 ± 0.9 | 0.48 ± 0.05<br>15.9 ± 1.0 | 0.27 ± 0.064<br>16.1 ± 1.4 | – |
| | | | Эпителий Epithelium | 6.4 ± 0.3 x<br>2.4 ± 0.1 | 0.50 ± 0.07<br>15.7 ± 1.7 | 0.22 ± 0.045<br>15.6 ± 1.1 | – |
| | 3 года years | | Строма Stroma | 6.0 ± 1.3 | 0.49 ± 0.05<br>15.6 ± 0.7 | 0.31 ± 0.060<br>13.6 ± 1.1 | – |
| | | | Эпителий Epithelium | 7.9 ± 1.1 x<br>3.4 ± 0.4 | 0.48 ± 0.04<br>18.2 ± 1.3 | 0.26 ± 0.063<br>14.4 ± 1.3 | – |
| Сибирский осетр Sturgeon | 8.5 мес., months | Гонии gonia | Эпителий Epithelium | 13.3 ± 0.3 x<br>4.5 ± 0.8 | 0.39 ± 0.01<br>17.1 ± 1.0 | 0.10 ± 0.055<br>11.4 ± 1.3 | – |
| | | | Строма Stroma | 13.1 ± 0.7 | 0.71 ± 0.02<br>7.1 ± 1.0 | 0.40 ± 0.010<br>10.6 ± 1.1 | 1.87 ± 0.04<br>33.1 ± 1.0 |
| Стерлядь Sterlet | 9.5 мес., months | Гонии gonia | Строма Stroma | 13.2 ± 1.0 | 0.49 ± 0.07<br>11.8 ± 0.7 | 0.27 ± 0.015<br>14.9 ± 0.8 | 1.16 ± 0.02<br>32.3 ± 1.3 |

*Примечания*: [a] Указаны половые клетки старшей генерации и диаметр ооцитов периода превителлогенеза, [b] АЭР – агранулярный эндоплазматический ретикулум, [c] РПМ – ооциты периода ранней профазы мейоза, [d] ПВ – ооциты периода превителлогенеза.

*Notes*: [a] The sex cells of the older generation and the diameter of previtellogenic oocytes were noted, [b] AER – agranular endoplasmic reticulum, [c] EPM – oocytes of early prophase meiosis, [d] PV – previtellogenic oocytes.



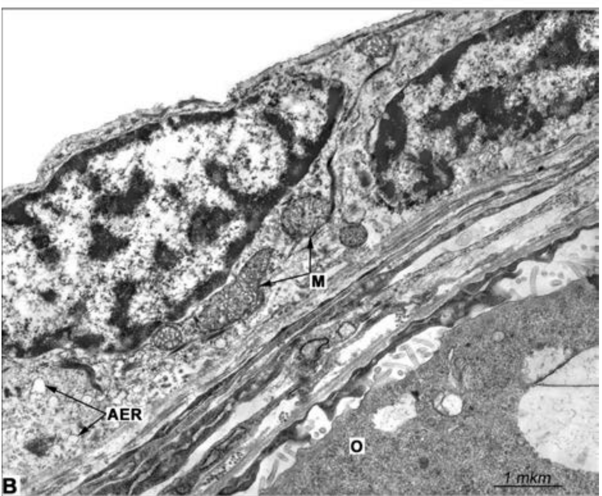




**Рис. 1**. Стероидсекреторные клетки в строме яичника у молоди форели в возрасте 75 сут. (А) и в теке фолликула превителлогенного ооцита в яичнике у горбуши в возрасте 90 сут (В). Сокращения: О – участок цитоплазмы превителлогенного ооцита; N – ядро стероидсекреторной клетки; М – митохондрии с трубчато-везикулярными кристами; AER – канальцы агранулярного эндоплазматического ретикулума.

**Fig. 1.** Steroid-secretory cells in ovarian stroma in juvenile trout at the age of 75 days (A) and in the follicle of the previtellogenic oocyte in the ovary in pink salmon at the age of 90 days (B). Abbreviations: O – the part of the cytoplasm of the previtellogenic oocyte; N – nucleus of steroid-secretory cell; M – mitochondria with tubular-vesicular cristae; AER – tubules of the agranular endoplasmic reticulum.

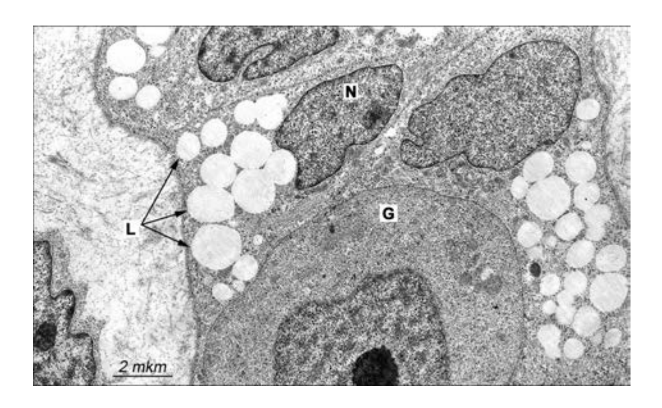



**Рис. 2.** Стероидсекреторная клетка в семеннике самца стерляди. Сокращения: N – ядро стероидсекреторной клетки; G – сперматогоний; L – липидные включения.

**Fig. 2.** The steroid-secretory cell in the testes of a male sterlet. Abbreviations: N – steroid-secretory cell nucleus; G – spermatogonia; L – lipids.

Стероидсекреторные клетки в гонадах идентифицировали по характерным для них ультраструктурным признакам, в частности, наличию митохондрий с трубчато-везикулярными кристами, агранулярного эндоплазматического ретикулума и липидных включений (Lofts and Bern 1972). Именно в клетках с такими признаками у молоди рыб был выявлен фермент стероидогенеза 3β-гидроксистероиддегидрогеназа (Семенов [Semenov] 1989, 1996). Для оценки функциональной активности стероидсекреторных клеток проводили количественный анализ, в ходе которого измеряли диаметры самих клеток, их ядер, диаметры митохондрий, канальцев эндоплазматического ретикулума и липидных включений, а также вычисляли относительные объёмные плотности этих структур (Weibel 1969). Средние диаметры клеток полигональной формы, локализованных в строме, были рассчитаны как полусумма большого и малого диаметра (Alam et al. 2006). Средние диаметры клеток уплощенной вытянутой формы, находящихся в составе эпителия гонад и оболочек ооцитов (теки и гранулезы), представляли по наибольшему и наименьшему диаметру. В дальнейшем сравнения делали для каждой группы клеток отдельно. Все измерения проводили по фотографиям, переведённым в цифровые изображения.Для каждой исследованной особи проводили измерения срезов не менее чем 25 стероидсекреторных клеток. Обработку данных проводили с помощью стандартных статистических программ. Для сравнения средних значений использовали t-критерий Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гонады у молоди круглоротых и рыб исследовали в принципиально различном возрасте: у горбуши – от 1 до 90 сут., у форели – от 30 до 116 сут., у сибирского осетра – в 8.5 мес., у стерляди – в 9.5 мес. и личинок миноги – от 1 до 3 лет. Однако, несмотря на различный календарный возраст, состояние гонад у рыб разных видов было сходным, причем как у самок, так и у самцов. Например, диаметр ооцитов в течение периода исследования у разных рыб в среднем составил: у форели – от 40 до 120 мкм, у горбуши – от 30 до 130 мкм, у стерляди – от 60 до 80 мкм и у миноги – от 60 до 130 мкм (Табл. 1). Сходными были также изменения в локализации и степени активности стероидсекреторных клеток. Так, у самок всех изученных видов эти клетки появлялись в строме гонад, затем, с появлением ооцитов периода превителлогенеза, их обнаруживали в оболочках ооцитов – сначала в гранулезе, затем в теке (Табл. 1). У самцов стероидсекреторные клетки обнаруживали в эпителии и строме семенников. При этом у всех видов с возрастом наблюдали снижение секреторной активности в эпителии и возрастание ее в строме.

Вместе с тем, при практически одинаковой динамике в локализации стероидсекреторных клеток в яичниках и семенниках у разных видов круглоротых и рыб, в их ультраструктурной организации были отмечены существенные различия. Так, у самок миноги в возрасте 1, 2 и 3 года в среднем наиболее крупные клетки имели диаметр соответственно 6.1; 8.7 × 1.4; 5.2 × 1.7 мкм. У молоди осетровых рыб они были значительно больше – 10.9 × 4.5; 13.0; 18.2 × 4.7 мкм (Табл. 1). При этом, судя по степени развития и размерам органоидов, эти клетки не отличались достоверно по уровню синтетической активности. Так, например, диаметр митохондрий в клетках у миноги и стерляди был от 0.38 до 0.48 и от 0.41 до 0.43 мкм соответственно. У молоди форели и горбуши стероидсекреторные клетки в разном возрасте в среднем были крупнее, чем у самок миноги. Однако самые крупные клетки, выявленные в строме гонад, составляли в среднем 9.3 мкм (форель, 75 сут.), а в гранулезе и теке – 14.7 × 3.2 мкм (горбуша, 38 сут.) были все равно достоверно меньше, чем клетки у молоди осетровых рыб (Табл. 1).

Аналогичная закономерность была выявлена и у самцов. Так, самые крупные клетки в семенниках всех видов мы обнаружили у горбуши в возрасте 30 сут. в период инверсии пола. Можно полагать, что эти клетки были и наиболее активными в плане стероидного синтеза. В них были обнаружены самые крупные митохондрии (средний диаметр 0.69 мкм) и, за единственным исключением, самые крупные канальцы эндоплазматической сети (средний диаметр 0.28 мкм). Однако диаметр этих клеток (в среднем 9.7 мкм) был достоверно меньше ($p < 0.01$), чем диаметр локализованных в строме секреторных клеток у осетра и стерляди – 13.1 и 13.2 мкм соответственно (Табл. 1).

Как известно, стероидсекреторные клетки в гонадах идентифицируют по многим признакам, три из которых являются основными. Два из них, это канальцы хорошо развитого агранулярного эндоплазматического ретикулума (АЭР) и митохондрии с трубчато-везикулярными кристами (Christensen and Gillim 1969; Lofts and Bern 1972). Эти структуры можно видеть в клетках, наиболее активных в плане стероидного синтеза. Например, у самок форели – в возрасте 75 сут. (Рис. 1A) и у самок горбуши – в возрасте 38 сут. (Рис. 1B). Нами были проанализированы не только средние диаметры этих структур, но и их соотношение в клетках у разных видов. Так, доля диаметра АЭР от диаметра митохондрий во всех клетках у молоди форели, горбуши и миноги варьировала в диапазоне от 11.5 до 34.3% при двух исключениях – 51.5 и 62.1%. В отличие от этого у молоди осетра и стерляди этот показатель изменялся в диапазоне от 41.8 до 80.4% при единственном исключении – 25.5%. Таким образом, мы видим, что в большинстве случаев доля диаметра канальцев АЭР от диаметра митохондрий в различных по активности клетках у молоди форели, горбуши и миноги меньше, чем у молоди осетра и стерляди.

В качестве примера рассмотрим состояние клеток, выявленных у горбуши в возрасте 90 сут. и стерляди, расположенных у обоих видов в теке фолликулов. У горбуши диаметр самих клеток, митохондрий и канальцев АЭР в среднем составил соответственно 11.9 × 4.2;

0.72 и 0.17 мкм, а у молоди стерляди – 18.2 × 4.7; 0.43 и 0.30 мкм. Таким образом, при более крупных размерах клеток у молоди стерляди диаметр митохондрий был почти в два раза меньше, а диаметр канальцев АЭР был почти в два раза больше ($p < 0.01$ в обоих случаях), чем у молоди горбуши. Очевидно, что в этом случае для определения активности недостаточно использовать размеры клеток и диаметр основных клеточных структур, связанных со стероидным синтезом. Дальнейший анализ проводился с использованием относительных объемных плотностей этих структур.

Так, объемные плотности митохондрий и канальцев АЭР у молоди горбуши составили 16.1 и 17.7%, а у молоди стерляди – 15.0 и 17.5%. Эти значения достоверно не отличались, т.е. больший размер той или иной структуры компенсировался ее меньшим содержанием в клетке и наоборот. Подобные различия были обнаружены при исследовании стероидсекреторных клеток у самцов. Так, у молоди форели и горбуши доля диаметра канальцев АЭР составила от 15.0 до 41.8%, а у миноги, осетра и стерляди – от 44.0 до 63.5% при единственном исключении – 25.6%.

Третий основной показатель, по которому идентифицируют стероидсекреторные клетки, это – липидные включения. Из всех клеток, исследованных нами у самок и самцов форели, горбуши и миноги, липидные включения были обнаружены только в одном случае – в клетках, локализованных в строме гонад у самок форели в возрасте 30 сут. Мы также не обнаружили липидные включения в стероидсекреторных клетках, исследованных нами у молоди горбуши, кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum, 1792) и симы *Oncorhynchus masou* (Brevoort, 1856) непосредственно перед выпуском с лососевых рыбоводных заводов в Сахалинской области (Мосягина и Зеленников [Mosyagina and Zelennikov] 2006). В отличие от этого у самок и самцов осетра и стерляди липидные включения в секреторных клетках присутствовали абсолютно у всех особей (Рис. 2), а объемная плотность этих включений в каждом случае была достоверно больше ($p < 0.01$), чем у молоди форели (Табл. 1).

Обсуждая полученные данные, необходимо отметить, что практически во всех представленных в литературе работах исследовали состояние стероидсекреторных клеток у одного, максимум двух близкородственных видов рыб. Исследование этих клеток у многих видов эволюционно далеких биологических групп в нашей работе, выполненное по единой схеме, позволило предположить, что морфологический облик стероидсекреторных клеток может отражать как степень их секреторной активности, так и видовые особенности их ультраструктурной организации.

Сравнительный анализ секреторной активности у самок всех видов круглоротых и рыб показал, что происходило последовательное её смещение из стромы сначала в гранулезу, а затем и в теку фолликулов ооцитов в ходе развития яичников. Последовательное появление и начало функционирования различных типов стероидсекреторных клеток в ходе дифференцировки пола ранее было показано у некоторых видов костистых рыб – у кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792) (Мосягина, Зеленников, [Mosyagina and Zelennikov] 2012), тиляпии *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus, 1758) (Nakamura and Nagahama 1985) и группера *Epinephelus malabaricus* (Bloch et Schneider, 1801) (Murata et al. 2011).

У самцов всех видов наблюдали постепенное уменьшение секреторной активности в эпителии и усиление в строме гонад. При этом самые активные стероидсекреторные клетки мы обнаружили у самцов горбуши в возрасте 30 сут., когда у всех особей еще присутствовали ооциты периода превителлогенеза, но уже осуществлялась естественная инверсия пола. Ранее высокая секреторная активность клеток, локализованных в строме гонад, в период естественной инверсии пола была показана у протогинических гермафродитов других систематических групп – талассомы *Thalassoma duperrey* (Quoy et Gaimard, 1824) (Morrey et al. 1998) и группера *Epinephelus merra* (Bloch, 1793) (Alam et al. 2006).

Вместе с тем видовые отличия в организации стероидсекреторных клеток, вероятно, могут объясняться разными причинами. Например, большое число липидных включений в секреторных клетках у самок и самцов осетровых рыб может быть связано с большим содержанием жира в их гонадах. Как известно, половые

железы у молоди осетровых рыб отличаются топографическим разобщением генеративной, стромальной и жировой частей. При этом жировая часть может во много раз превосходить генеративную и стромальную части вместе взятые (Ахундов [Achundov] 1991; Zelennikov et al. 1999).

Косвенно в пользу этого предположения свидетельствуют результаты наших экспериментов, в ходе которых оказывалось гормональное воздействие на молодь лососевых рыб – горбуши, кижуча и симы. Поскольку гормон был заключен в масляную основу, контрольным рыбам с кормом или в виде инъекций давали соответствующее количество оливкового масла. В результате как у подопытных, так и у контрольных рыб в стероидсекреторных клетках были обнаружены многочисленные липидные включения (Мосягина и Зеленников [Mosyagina and Zelennikov] 2012).

Суммируя полученные данные, можно заключить, что при сходной секреторной активности стероидсекреторные клетки у разных видов рыб даже на одном и том же этапе онтогенеза могут иметь свои особенности ультраструктурной организации, что необходимо учитывать при сравнении количественных данных, полученных в разных исследованиях.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы глубоко признательны за всестороннюю помощь и поддержку исследований Ю.К. Кузнецову, К.Е. Федорову, Д.А. Чмилевскому, П.Е. Гарлову. Авторы также выражают искреннюю благодарность рецензентам за критические замечания и ценные советы при подготовке рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА

**Achundov M.M. 1991**. Influence of environmental factors on early gameto- and gonadogenesis of sturgeon. The dissertation on competition of a scientific degree of candidate of biological sciences. Baku, 222 p. [In Russian].

**Arbuzova L.L. 1996.** Submicroscopic examination of the testes of juveniles of pink and masu salmon. Proceedings of the science conference: Fish farming researches of ocean. Vladivostok: 168. [In Russian].

**Alam M.A., Komuro H., Bhandari R.K., Nakamura Sh., Soyano K. and Nakamura M. 2005.** Immunohistochemical evidence identifying the site of androgen production in the ovary of the protogynous grouper *Epinephelus merra*. *Cell and Tissue Research*, **320**(2): 323–329. https://doi.org/10.1007/s00441-004-1037-9

**Alam M.A., Bhandari R.K., Kobayashi Y., Nakamura Sh., Soyano K. and Nakamura M. 2006.** Changes in androgen-producing cell size and circulating 11-ketotestosterone level during female-male sex change of honeycomb grouper *Epinephelus merra*. *Molecular Reproduction and Development*, **73**(2): 206–214. https://doi.org/10.1002/mrd.20393

**Cavaco J.E.B., Blijswijk van B., Leatherland J.F., Goos H.J.Th. and Schulz R.W. 1999.** Androgen-induced changes in Leidig cell ultrastructure and steroidogenesis in juvenile African catfish, *Clarias gariepinus*. *Cell and Tissue Research*, **297**(2): 291–299. https://doi.org/10.1007/s004410051357

**Christensen A.K. and Gillim S.W. 1969.** The correlation of fine structure and function in steroid-secreting cells, with emphasis on those of the gonads. In: K.W. McKerns (Ed.). The gonads. Noth-Holland Publ. Co., Amsterdam: 415–488.

**Devlin R.H. and Nagahama Y. 2002.** Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aguaculture,* **208**(3–4): 191–364. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00057-1

**Do Rego J.L. and Vaudry H. 2016.** Comparative aspects of neurosteroidogenesis: From fish to mammals. *General and Comparative Endocrinology*, **227**: 120–129. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.05.014

**Fedorov K.E., Zubova S.E., Semenov V.V. and Burlakov A.B. 1990.** Steroid-secretory cells in the gonads of young sterlet *Acipenser ruthenus* L. during sex differentiation. *Journal of Ichthyology*, **30**(1): 65–75. [In Russian].

**Guraya S.S. 1976a.** Recent advances in the morphology, histochemistry, and biochemistry of steroid-synthesizing cellular sites in the nonmammalian vertebrate ovary. *International Review of Cytology,* **44**: 365–409.

**Guraya S.S. 1976b.** Recent advances in the morphology, histochemistry, and biochemistry of steroid-synthesizing cellular sites in the testes of nonmammalian vertebrates. *International Review of Cytology,* **47**: 99–136.

**Kobayashi T., Soyano K. and Nakamura M. 2011.** Differentiation of steroid-producing cells during ovarian differentiation in the protogynous Malabar grouper, *Epinephelus malabaricus*. *The International Journal of Developmental Biology*, 55: 619–625. https://doi.org/10.1387/ijdb.103181rm

**Lofts B. and Bern H.B. 1972.** The functional morphology of steroidogenic tissue. In: D.R. Idler (Ed.). Steroids in Nonmammalian Vertebrates. Academic Press, New York: 37–125.

**Mironov A.A., Kombssarchik Ya.Yu. and Mironov V.A. 1994.** Methods of electron microscopy in biology and medicine. Nauka, Saint Petersburg, 400 p. [In Russian].

**Morrey C.T., Nakamura M., Kobayashi T., Grau E.G. and Nagahama Y. 1998.** P450scc-like immunoreactivity throughout gonadal restructuring in the protogynous hermaphrodite *Thalassoma duperrey. The International Journal of Developmental Biology*, **42**: 811–816.

**Mosyagina M.V. 2006.** Development steroid-producing cells in the gonads of cyclostomes and fish in early ontogenesis. The dissertation on competition of a scientific degree of candidate of biological sciences. Saint Petersburg. 230p. [In Russian].

**Mosyagina M.V., Kuznetsova I.V., Zelennikov O.V. and Garlov P.E. 2003.** Morpho-functional analysis of steroid-producing cells state in juvenile gonads of pink salmon (*Oncorhynhus gorbuscha* (Walbaum)) in norm and after estradiol exposure. *Cytology*, **45**(5): 450–455. [In Russian].

**Mosyagina M.V. and Zelennikov O.V. 2006.** On the role of steroid-producing cells in the gonads regulation development of juvenile Pacific salmon. *Journal of Ichthyology,* **46**(3): 265–270. https://doi.org/10.1134/S0032945206030064

**Mosyagina M.V. and Zelennikov O.V. 2012.** A study of steroid cells in gonads of salmon fry after hormonal treatment. *Biological Communications*, **4**: 3–19. Retrieved from https://biocomm.spbu.ru/article/view/3195 [In Russian].

**Mosyagina M.V. and Zelennikov O.V. 2016.** State of steroid-producing cells and sex steroid hormones concentration in blood plasma of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* and sterlet *A. ruthenus* (Acipenseridae) during sex differentiation. *Journal of Ichthyology,* **56**(1): 141–146. https://doi.org/10.1134/S0032945215060107

**Murata R., Karimata H., Kobayashi Y., Horiguchi R., Kishimoto K. and Kimura M., 2011.** Differentiation of steroid-producing cells during ovarian differentiation in the protogynous Malabar grouper, *Epinephelus malabaricus. The International Journal of Developmental Biology*, **55**(6): 619–625. https://doi.org/10.1387/ijdb.103181rm

**Nakamura M. and Nagahama Y. 1985.** Steroid producing cells during ovarian differentiation of tilapia, *Sarotherodon niloticus. Development, Growth and Differentiation,* **27**(6): 701–708. https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.1985.00701.x

**Nakamura M., Kobayashi T., Chang X.-T. and Nagahama Y. 1998.** Gonadal sex differentiation in teleost fish. *Journal of Experimental Zoology*, **281**: 362–372. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19980801)281:5<362::AID-JEZ3>3.0.CO;2-M

**Semenov V.V. 1989.** Possible origin, structure and localization of steroid-secreting cells in the ovary of young sturgeon. *Cytology,* **31**(1): 34–41. [In Russian].

**Semenov V.V. 1996.** The development of the sexual and secretory cells of the ovary in early ontogenesis of sturgeon fishes. *Cytology,* **38**(4/5): 445–455. [In Russian].

**Vizziano-Cantonnet D. 2018.** Gonadal Steroids: Synthesis, Plasmatic Levels and Biological Activities in Sturgeons. In: P. Williot, G. Nonnotte, D. Vizziano-Cantonnet and M. Chebanov (Eds). The Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) Volume 1 – Biology. Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018. Switzerland: 327–350. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61664-3_16

**Weibel E.R. 1969.** Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *International Review of Cytology,* **26**: 235–302. https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61637-X

**Zelennikov O.V. 1997.** The effect of acidification on the oogenesis of rainbow trout during sex differentiation. *Journal of Fish Biology,* **50**(1): 18–21.

**Zelennikov O.V., Mosyagina M.V. and Fedorov K.E. 1999.** Oogenesis inhibition, plasma steroid levels, and morphometric changes in the hypophysis in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti* Brandt) exposed to low environment pH. *Aquatic Toxicology,* **46**(1): 33–42. https://doi.org/10.1016/S0166-445X(98)00113-1


*Представлена 9 октября 2019 г.; принята 20 ноября 2019 г.*